

Aus der Universitäts-Kinderklinik Zürich

(Direktor: Prof. A. PRADER)

Arbeit unter der Leitung von Prof. W. H. HITZIG

Die mononukleäre Entzündungsphase im frühen Kindesalter

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der medizinischen Fakultät

der Universität Zürich

vorgelegt von

Magdalena Meyer

von Schleithem

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. W. H. HITZIG

Zürich 1968

Druckerei Sauerländer AG, Aarau

Curriculum vitae

Am 4. April 1939 wurde ich in Aarau geboren. Meine ersten Schuljahre verbrachte ich in Windisch, setzte sie dann aber nach dem Umzug meiner Familie in Neuhausen am Rheinfall fort. Später besuchte ich die humanistische Abteilung der Kantonsschule Schaffhausen bis zur Matura im Jahre 1958.

Die ersten beiden Semester an der Medizinischen Fakultät sowie das 1. Propädeutische Examen absolvierte ich in Bern. Darnach folgten Vor-
klinik und Klinik an der Universität Zürich, nur unterbrochen durch 1
klinisches Semester in Paris. Staatsexamen in Zürich im Frühjahr 1965.

Vom 1. September 1965 bis 30. November 1966 arbeitete ich als Assistentin
von Herrn Prof. Dr. W. H. HIRTZIG im Immunochemischen Eiweißlabor am
Kinderspital Zürich, vom 1. 12. 66 bis 15. 1. 68 auf der chirurgischen Ab-
teilung des Kantonsspitals Schaffhausen (Chefarzt Dr. G. NEFF). Seit 1. 2. 68
Assistentin auf der Medizinischen Abteilung des Kantonsspitals Aarau
(Chefarzt PD. Dr. H. R. MARTI).



Die mononucleäre Entzündungsphase im frühen Kindesalter*

MAGDALENA MEYER

Immunochemisches Labor (Leiter: Prof. W. H. HITZIG) der Universitäts-Kinderklinik Zürich (Direktor: Prof. A. PRADER)

1. Einleitung

Immunbiologisch sind die ersten Lebenswochen nicht nur durch die noch wenig entwickelte Fähigkeit zur humoralen Antikörperbildung gekennzeichnet [3, 8, 9], sondern auch durch eine mangelhafte celluläre Abwehrreaktion [21]. An der letzteren sind im wesentlichen zwei Zelltypen beteiligt, die vereinfacht als Polynucleäre und Mononucleäre zusammengefaßt werden können. Mononucleäre Zellen vermitteln die Reaktionen vom verzögerten Typus. Diese Fähigkeit zu Spätreaktion (delayed hypersensitivity) tritt onto- und phylogenetisch früher auf als die humorale Antikörperbildung [4, 7, 8]. Ihre exakte Messung war bisher jedoch kaum möglich, im Gegensatz zu den humoralen Faktoren, über deren physiologische Entwicklung mehrere quantitative Untersuchungen existieren.

Für die Beurteilung der lokalen cellulären Entzündungsreaktionen existieren noch keine klinisch anwendbaren Standardmethoden. Der von REBUCK [20] ausgearbeitete Hautfenstertest scheint eine für diesen Zweck geeignete Untersuchungsmethode zu sein. Er

vermittelt einen Einblick in den zeitlichen Ablauf einer künstlich erzeugten Entzündungsreaktion. Die Untersuchung ist für den Patienten wenig belastend und zudem ungefährlich, wenn die für besondere Fragestellungen vorgeschlagene Antigen-Exposition vermieden wird.

Wir stellten uns die Aufgabe, mit dieser Methode das physiologische Verhalten von gesunden Kindern im Alter von 6 Tagen bis 12 Monaten zu untersuchen; in der vorliegenden Arbeit wurde insbesondere das Verhalten der mononucleären Zellen in den ersten Lebenswochen berücksichtigt. Die Ergebnisse lassen eine rasche, dramatische Veränderung im ersten Lebensmonat erkennen. Daraus ohne weiteres auf eine gleichsinnige Entwicklung der Fähigkeit zur verzögerten immunologischen Reaktion schließen zu wollen, wäre noch verfrüht. Zur Klärung dieser Frage sind zusätzliche funktionelle Untersuchungen notwendig.

2. Methode

Die Hautfenstertechnik nach REBUCK [20] ermöglicht es auf einfache Weise, eine sterile, rein mechanisch induzierte Entzündung zu beobachten. Nach Desinfektion der Vorderarm-Volarseite wird mit einem sterilen Skalpell sorgfältig ein kleiner

* Arbeit mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

Hautbezirk von ca. 10 mm Durchmesser scarifiziert. Eine Blutung muß unter allen Umständen vermieden werden; jedoch zeigen vereinzelte capilläre Blutpunkte, daß die richtige Schicht erreicht ist. Die Läsion wird mit einem sterilen runden Deckglas von 15 mm Durchmesser gedeckt, dieses mit wenigen, auf dieselbe Größe zugeschnittenen Gazeschichten und einem Kartonstück gepolstert und alles mit Heftpflaster an Ort und Stelle festgehalten. Damit das Glas sicher auf der lädierten Hautstelle aufliegt, kann mit einer elastischen Binde zusätzlich ein leichter Druck ausgeübt werden. Gaze und Karton werden vor dem Versuch zugeschnitten, zusammen mit dem sorgfältig gereinigten Deckglas verpackt und trocken sterilisiert.

Zu den gewünschten Untersuchungszeiten wird das Deckglas ausgewechselt und nach kurzem Lufttrocknen nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt. Auf jedem Präparat wurden nach Möglichkeit an verschiedenen Stellen 500–1000 Zellen ausgezählt und in mononucleäre Zellen und Granulocyten (incl. Eosinophile und Basophile) differenziert. Die in den Tabellen angegebenen und auf den graphischen Darstellungen aufgetragenen Werte entsprechen dem Anteil der mononucleären Zellen; die Granulocyten ergänzen sich dann auf 100%.

Aus den einzelnen Resultaten wurden die Mittelwerte errechnet. Die einfache Standardabweichung wurde nach der Formel

$$\sqrt{\frac{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{N}}{N-1}}$$

berechnet [6].

BECKER [1] hat in vergleichenden Langzeit- und Wechselversuchen mit dem Rebuck-Test gezeigt, daß jeder Deckglaswechsel wieder einen neuen Stimulus für das Erscheinen von Granulocyten im Entzündungsgebiet bedeutet. Auch die Gefahr der Superinfektion der Läsion ist bei häufigem Wechseln größer; dabei wird wiederum das Zellverhältnis stark zugunsten der Granulocyten verschoben.

Als Kompromiß wählten wir daher für alle unsere Untersuchungen die Lösung, das Deckglas nur zweimal, nach 4 und 11 Std, zu wechseln und es nach 24 Std zu entfernen. Die damit gewonnenen 3 Werte genügen unseres Erachtens, um einen guten Überblick über den Entzündungsablauf zu erhalten.

3. Untersuchte Personen

Zur Einarbeitung in die Methode führten wir bei mehreren gesunden Erwachsenen *Vorversuche* mit dem Rebuck-Test durch. Zur Beurteilung der Fehlerbreite setzten wir bei einigen Personen zur gleichen Zeit an beiden Vorderarmen acht Läsionen und errechneten aus den Einzel-Resultaten Mittelwerte und Standardabweichungen nach obiger Formel.

Der *Hauptversuch* umfaßt 61 Kinder, die wir willkürlich in drei Altersklassen einordneten (s. Tabelle 1).

Tabelle 1. Abgrenzung der Altersgruppen

Gruppe	Alter	Anzahl Kinder
1	6–28 Tage	24
2	29–125 Tage	17
3	126–265 Tage	20

Ein Drittel davon waren gesunde Kinder aus einem Säuglingsheim, die übrigen lagen meist zur Abklärung nichtentzündlicher neurologischer Affektionen auf unserer Klinik. Es wurden nur Patienten in die Untersuchung miteinbezogen, bei denen folgende Kriterien erfüllt waren: das Kind sollte in den vorangehenden 2–3 Wochen laut Anamnese keine entzündliche Krankheit durchgemacht haben und im Zeitpunkt der Untersuchung afebril sein und ein normales Blutbild (Leukocyten- und Differentialzählung) aufweisen. Ferner wurden Patienten mit Stoffwechselstörungen wie Hyperaminoacidurien, Galaktosämie etc., ausgeschlossen.

4. Resultate

A. Vorversuche

Ein detailliert ausgewerteter Parallelversuch mit 8 gleichzeitig gesetzten Läsionen an derselben Person

ist in Tabelle 2 und Abb. 1 wiedergegeben. Als Resultate sind die Mittelwerte der mononucleären Zellen als Prozent der Gesamtleukocyten nach 4, 11 und 24 Std mit den Standardabweichungen eingetragen.

Der Vorversuch zeigt, daß das Verhältnis mononucleäre Zellen/Granulocyten in verschiedenen Läsionen bei ein und derselben Person nur mäßige Schwankungen aufweist. Bereits nach 24 Std werden die Differenzen jedoch ziemlich groß; nach längeren Zeitintervallen (36 und 40 Std) zeigten orientierende Versuche eine unkontrollierbar große Streuung, die eine Auswertung verunmöglichte. Nebst wieder neu ins

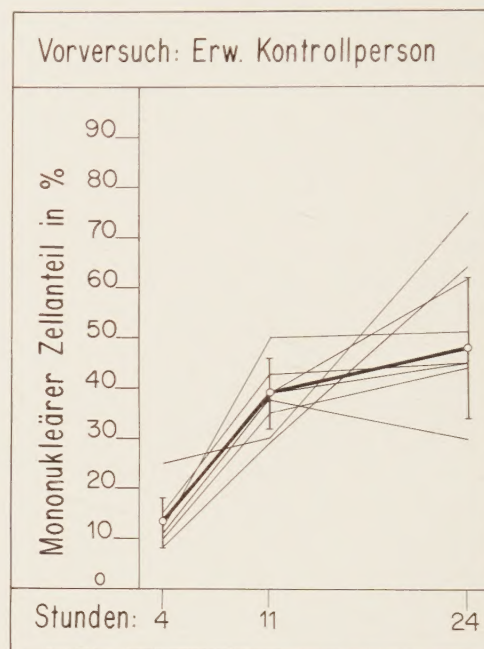


Abb. 1. Vorversuch: Acht simultan gesetzte Läsionen bei derselben gesunden erwachsenen Kontrollperson. — Einzelresultate; — Mittelwert; σ Standardabweichung

Tabelle 2. Vorversuch: Mittelwerte und Standardabweichungen des prozentualen mononucleären Zellanteils bei einer erwachsenen Kontrollperson. Acht gleichzeitig gesetzte Läsionen. Die Granulocyten (einschl. Eosinophile und Basophile) ergänzen sich auf 100. Als Vergleich dazu die von BECKER et al. [1] erhaltenen Mittelwerte bei gesunden Erwachsenen, die unseren Befunden ungefähr entsprechen

Unsere Werte	BECKER et al.
Nach 4 Std $13 \pm 5\%$	Nach 3 Std 2%
Nach 11 Std $39 \pm 7\%$	Nach 6 Std 21%
Nach 24 Std $48 \pm 14\%$	Nach 12 Std 42%
	Nach 24 Std 56%

Entzündungsgebiet eingewanderten Granulocyten und wenigen Makrophagen sind viele Zellen mit bizarren Kernformen vorhanden. Mit ihrem unscharf begrenzten und oft granulierten Plasma, können sie nicht mehr sicher der einen oder der anderen Zellkategorie zugeordnet werden. Die Frage, ob es sich hier um Übergangsformen von Makrophagen in Fibroblasten handelt, wie REBUCK (20) vermutete, ist noch nicht entschieden; sie wird bei unseren Untersuchungen nicht berücksichtigt.

B. Hauptversuche

a) *Quantitatives Verhalten.* Die bei gesunden Säuglingen gefundenen Zahlen sind in Tabelle 3 und

Abb. 2 und 3 aufgeführt. Auch hier werden die prozentualen Anteile der mononucleären Zellen nach 4, 11 und 24 Std angegeben. Als Vergleich kann die Tabelle 4 mit den Resultaten von SHELDON und CALDWELL [21] bei Neugeborenen dienen.

Aus Abb. 2 ist die Gesetzmäßigkeit im Entzündungsablauf aus dem gleichsinnigen Verlauf der einzelnen Verbindungsgeraden ersichtlich. Die Einzelkurven zeigen auch deutlich die individuellen Unterschiede; hat ein Kind bereits nach 4 Std relativ viele mononucleäre Zellen, liegen die Werte nach

Tabelle 3. Mittelwerte und Standardabweichungen des prozentualen Anteils der mononucleären Zellen nach 4, 11 und 24 Std bei den 61 Kindern, eingeteilt in 3 Altersklassen

Gruppe	Alter	Nach 4 Std	Nach 11 Std	Nach 24 Std
1	6— 28 Tage	14 ± 9%	25 ± 10%	55 ± 19%
2	29—125 Tage (1—4 Monate)	18 ± 7%	57 ± 21%	64 ± 15%
3	126—365 Tage (5—12 Monate)	13 ± 9%	47 ± 21%	69 ± 19%

handen. Ihre Anzahl steht aber in keinem Verhältnis zur Eosinophilenzahl im Blut; allgemein konnte keine numerische Korrelation zwischen den Zellen des entzündlichen Exsudates und dem Blutbild festge-

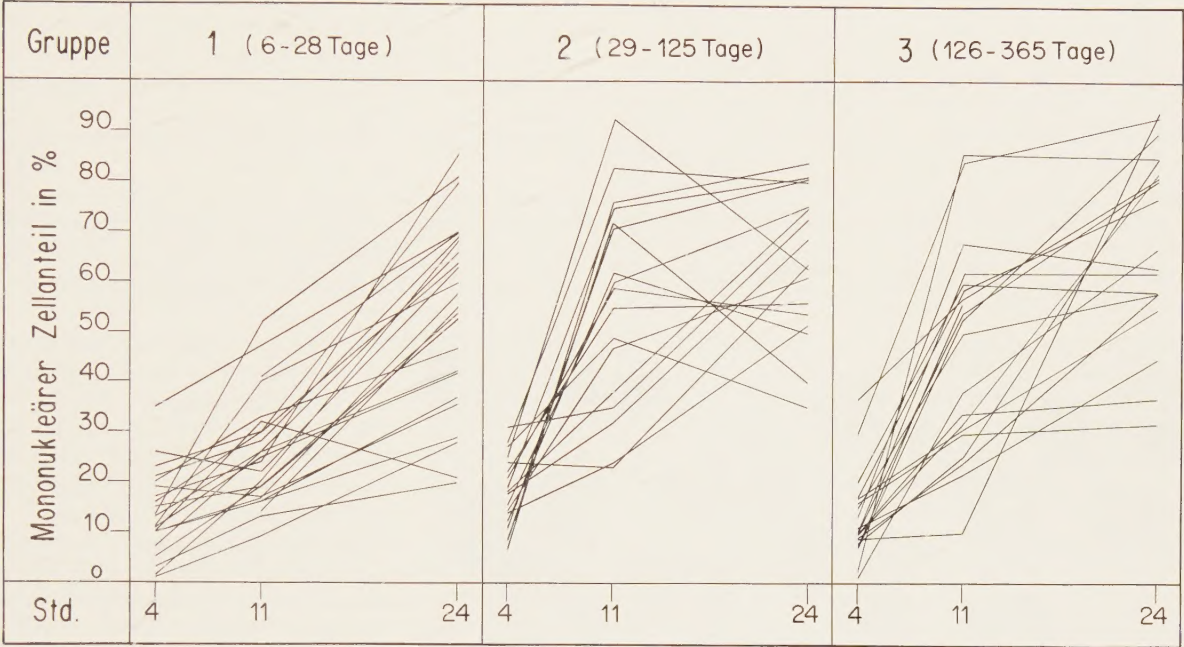


Abb. 2. Einzelresultate der 61 Kinder, eingeteilt in drei Altersklassen

11 Std meist noch höher. Das hie und da beobachtete Wiederansteigen der Granulocyten in der Spätphase ist nach SHELDON und CALDWELL [21] auf den Reiz des Deckglaswechsels zurückzuführen. Vor allem nach dem 7stündigen Intervall zwischen der 4. und 11. Std und nach den 13 Std von der 11.—24. Std konnten auch wir feststellen, daß das Deckglas oft ziemlich stark auf der Läsion haftet.

Allerdings ist die Streuung der Einzelwerte nach 11 und 24 Std groß. Ein sicher signifikanter Unterschied in der Standardabweichung besteht lediglich beim 11 Std-Wert der Gruppe 1 gegenüber den Gruppen 2 und 3. Oder anders ausgedrückt: die Mittelwerte des mononucleären Zellanteils liegen in der ersten Altersgruppe deutlich tiefer, während bereits vom 2. Monat an kein sicherer Unterschied gegenüber den Befunden bei Erwachsenen mehr besteht.

b) Zellmorphologie. Die Granulocyten, die im Entzündungsablauf zuerst erscheinen, weichen in ihren morphologischen Charakteristica in keiner Altersgruppe vom Aussehen beim Erwachsenen ab. Es sind große Zellen, oft mit 4 und 5 Kernsegmenten. Stabkernige sind nur selten anzutreffen. Bei einigen Patienten sind bis zu 10% und mehr Eosinophile vor-

Tabelle 4. Mittelwerte des prozentualen Anteils der mononucleären Zellen nach SHELDON und CALDWELL [21] bei Neugeborenen (mit dem Rebutck-Test)

2 Std	4—8 Std	12 Std	16 Std	20 Std	20—24 Std
5%	10%	20%	25%	35%	bis 50%

stellt werden. Basophile Granulocyten wurden vereinzelt gefunden.

Bei den Mononucleären bestehen neben den zahlenmäßigen aber auch gewisse morphologische Abweichungen gegenüber den Befunden bei Erwachsenen, die allerdings nur in den ersten 2—3 Lebenswochen deutlich hervortreten. Während nach 4 Std bei allen Altersgruppen fast ausschließlich typische Makrophagen mit hellem Kern und blaß-basophilem, stark vacuolisiertem Cytoplasma vorhanden sind, treten nach 11 Std in verschiedenem Ausmaße kleinere Zellen hinzu; sie haben einen chromatinreicheren Kern und ein dunkles basophiles Cytoplasma meist ohne oder mit nur sehr feinen Vacuolen. Bei den Kindern der ersten Altersgruppe (6—28 Tage) dominieren diese letzteren Zellen besonders nach 11 Std, meist aber auch noch nach 24 Std (Abb. 4). Diese Befunde stimmen mit der

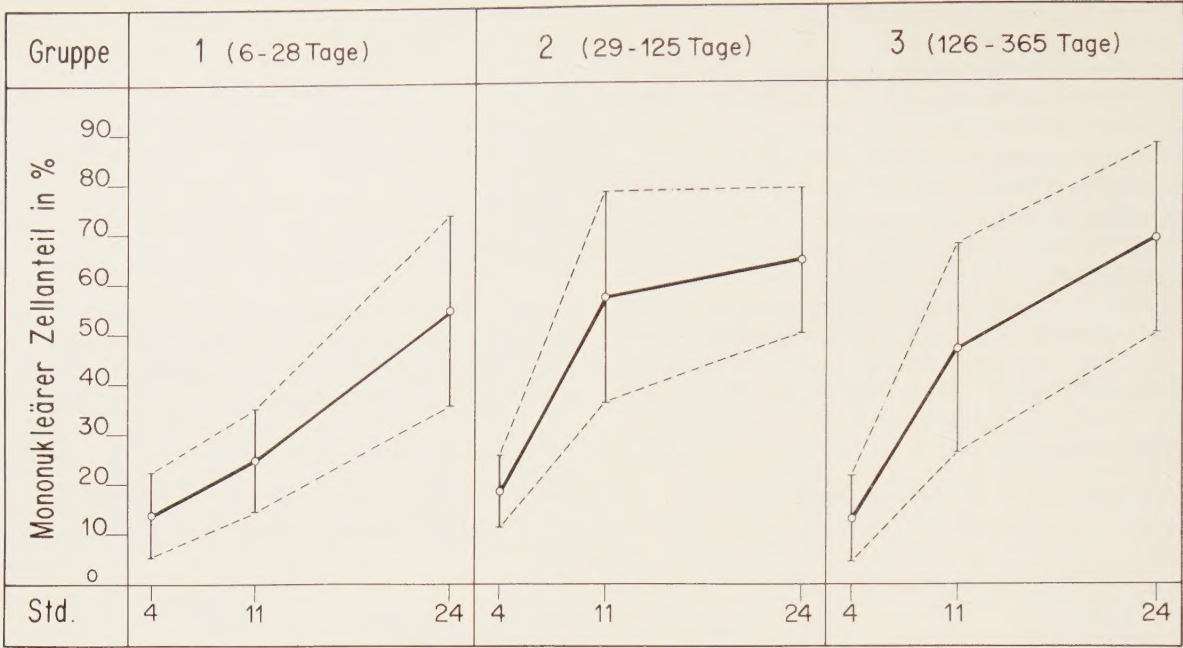


Abb. 3. Mittelwerte und Standardabweichungen. Ein sicher signifikanter Unterschied in der Standardabweichung besteht lediglich beim 11 Std-Wert der Gruppe 1 gegenüber den Gruppen 2 und 3. Oder anders ausgedrückt: die Mittelwerte des mononucleären Zellanteils liegen in der ersten Altersgruppe deutlich tiefer, während bereits vom 2. Monat an kein sicherer Unterschied gegenüber den Befunden bei Erwachsenen mehr besteht. — Mittelwert; $\pm$ Standardabweichung σ

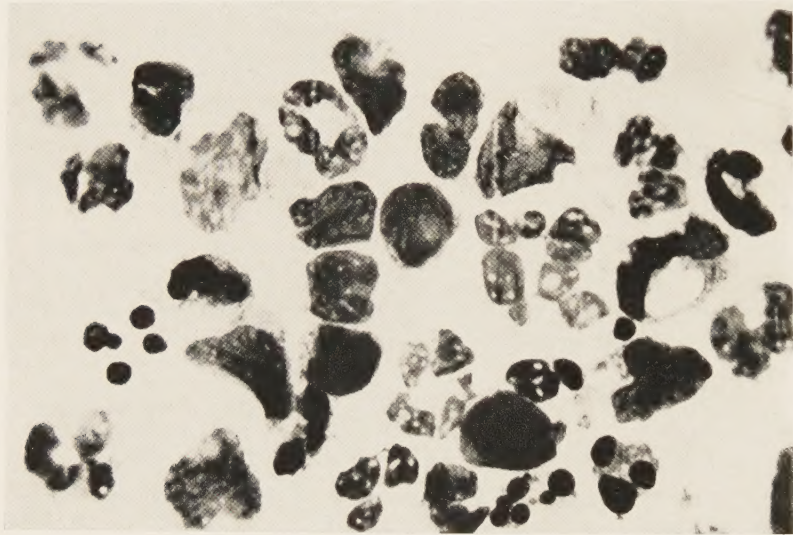


Abb. 4

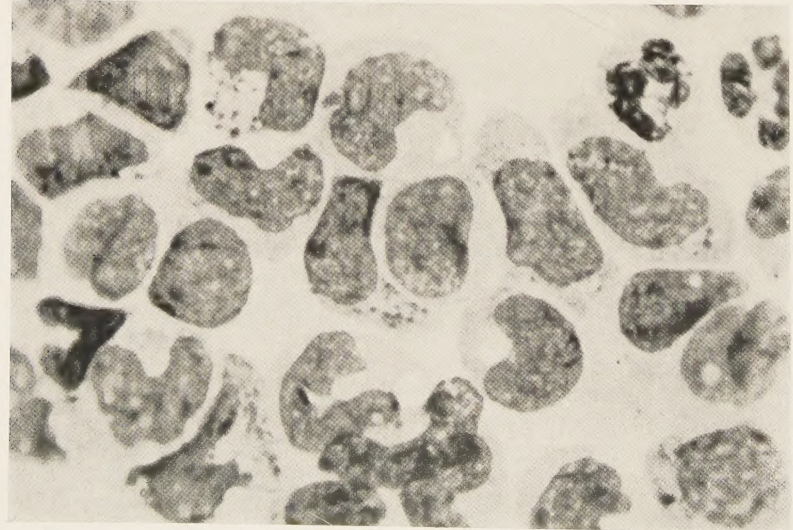


Abb. 5

von SHELDON und CALDWELL [21] bei Neugeborenen beschriebenen Zellmorphologie überein. Bereits vom Ende des 1. Lebensmonats an lassen die mononucleären Zellen sowohl nach 11 als auch nach 24 Std keine sichere morphologische Abweichung von typischen Makrophagen des Erwachsenen mehr erkennen; die beschriebenen kleineren basophilen Zellen des frühesten Säuglingsalters sind nur noch vereinzelt vorhanden (Abb. 5). Die Makrophagen haben oft Granula aus zerstörten Granulocyten gespeichert, was bei eosinophilenreichen Präparaten besonders deutlich zum Ausdruck kommt. Hin und wieder enthalten sie leuchtend grünes, grobkörniges Pigment, das wir mit Hilfe cytochemischer Methoden als gespeichertes Melanin identifizieren konnten [16], womit frühere Beschreibungen [25] übereinstimmen (Abb. 5).

Abb. 4. Sechs Tage altes Mädchen, Entnahme des Deckglases 24 Std nach Versuchsbeginn. Die spärlichen Granulocyten sind oft pyknotisch oder in Auflösung begriffen. Die Mononucleären bestehen z. T. aus typischen Makrophagen, z. T. aus kleineren „Stammzellen“ mit chromatinreichem Kern und schmalem, stark basophilem Plasmasaum. (Ölimmersion, 1200 $\times$)

Abb. 5. 6 1/2 Monate altes Mädchen, Entnahme des Präparates nach 24 Std. Überwiegend Mononucleäre, die fast ausschließlich typische Makrophagen sind (der Unterschied zu den kleineren „Stammzellen“ in Abb. 4 ist offensichtlich). Das dunkle Pigment ist (im Original grünes) Melanin. (Ölimmersion, 1200 $\times$)

5. Diskussion

a) Allgemeines

Die Rebucksche Hautfenstermethode ist ein relativ einfaches Hilfsmittel zum Studium cellularer Vorgänge während der entzündlichen Reaktion. Ihr Wert kann folgendermaßen beurteilt werden:

1. Als Positivum bewerten wir die Reproduzierbarkeit der Methode. Im Gegensatz zu REBUCK u.a. haben wir kein Antigen (Alttuberkulin, Streptokokkentoxin etc.) auf die Läsion gegeben, um jede Antigenexposition des Patienten zu vermeiden. Nach REBUCK [20] wird die entzündliche Reaktion übrigens durch den Antigenstimulus lediglich quantitativ, nicht aber in der qualitativen Zusammensetzung der Zellelemente beeinflusst. Dieser Punkt war für unsere Fragestellung von untergeordnetem Interesse, da die Anzahl der vorhandenen Zellen immer ausreichend war.

2. Ein Nachteil besteht darin, daß quantitative Verhältnisse nur unsicher beurteilt werden können. Verschiedene Autoren haben versucht, mit Modifikationen und Neuentwicklungen bessere Ergebnisse zu erzielen:

PERILLIE [14, 15] konnte mit der Originalmethode nach REBUCK keine zuverlässigen quantitativen Angaben über die celluläre Entzündungsreaktion erhalten. Er spülte deswegen die aus Hautläsionen normierter Größe auswandernden Zellen mit bekannten Mengen physiologischer Kochsalzlösung ab und zählte die Zellen in der Spülflüssigkeit; zur Berieselung der Läsion mußte er eine spezielle Glaskammer konstruieren. Mit dieser Anordnung wurde bei Patienten mit akuter Leukämie die absolute Zellanzahl im Entzündungsgebiet eindeutig vermindert gefunden.

BOGGS [2] versuchte die quantitative Beurteilung, indem er in eine mit Cantharidin induzierte Hautblase Staphylokokkentoxin injizierte und anschließend im Blaseninhalt die Zellen zählte. Die gefundenen Absolutwerte zeigten aber sehr große Schwankungen, und zwar nicht nur beim Vergleich zwischen verschiedenen Normalpersonen, sondern auch in multiplen simultan erzeugten Blasen beim gleichen Individuum.

BECKER [1] spülte die beim Rebuck-Test erhaltenen Zellen vom Plättchen ab und zählte sie in der Zählkammer.

SHELDON und CALDWELL [21] fanden mit dem Rebuck-Test große Variationen der Zellquantitäten bei Neugeborenen und Erwachsenen. Immerhin erhielten sie bei wiederholten Versuchen an der gleichen Person immer wieder ähnliche Resultate.

Eine genaue Beurteilung der absoluten Zellzahl ist mit der Rebuck-Methode nicht möglich. Wir hatten bei oberflächlicher Schätzung der Zellzahlen den Eindruck, daß in den ersten 3—4 Lebenswochen außer dem qualitativ verschiedenen Zellbild auch die absolute Anzahl deutlich geringer sei. Im zeitlichen Entzündungsablauf waren in allen Altersgruppen die Zellzahlen nach 11 Std schätzungsweise am größten.

Ferner ist als Nachteil zu erwähnen, daß alle Versuche, die entzündliche Reaktion länger als 24 Std zu beobachten, scheiterten, da nach diesem Intervall bereits Heilungsvorgänge einsetzen, die mit den entzündlichen Veränderungen interferieren. Sogar im 24 Std-Präparat imponierte oft schon eine starke Faserbildung mit polymorphen Zellformen, die wahrscheinlich den Übergangsformen zwischen Makrophagen und Fibroblasten entsprechen [20].

b) Spezielle Aspekte

α) *Physiologische Entwicklung.* Die einzige Arbeit, die den Ablauf der traumatischen Entzündungsreaktion bewußt mit dem Lebensalter korreliert, betrifft ausschließlich Neugeborene [21]. Vergleicht man die von den Autoren angegebenen Zahlen (Tabelle 4) mit unseren eigenen (Tabelle 3), so sind wesentliche Abweichungen vom Verhalten gesunder Erwachsener (vgl. [1]) nur in den ersten Lebenswochen deutlich erkennbar. Sie bestehen darin, daß mononucleäre Zellen in um so geringerer Zahl und mit um so größerer zeitlicher Verzögerung einwandern, je jünger das Individuum ist. Spätestens vom 5. Lebensmonat an kann kein zahlenmäßiger und zeitlicher Unterschied im Ablauf der entzündlichen Reaktion gegenüber dem Erwachsenen mehr gefunden werden.

β) *Pathologische Veränderungen.* Verschiedene Autoren stellten mit dem Rebuck-Test Abweichungen von der normalen cellulären Reaktion fest bei Leukämien [1, 14, 15], bei Hepatitis und bei Mononucleosis infectiosa [10], bei Colitis ulcerosa [18], bei Morbus Hodgkin [17], sowie unter dem Einfluß verschiedener Medikamente wie Antimetaboliten [11] und Prednison [1].

Entsprechende Untersuchungen im Kindesalter fehlten bisher; die vorliegende Arbeit soll diese Lücke schließen.

c) Deutung

Herkunft, Morphologie und Funktion der Zellen des entzündlichen Exsudats sind seit langem Gegenstand großer Diskussionen.

Was die *Granulocyten* betrifft, so ist kaum an ihrer Herkunft aus dem Knochenmark zu zweifeln. Ein direkter Beweis dafür liegt im vollständigen Fehlen der Granulocytenphase im Entzündungsgebiet bei Agranulocytose, wovon wir uns selbst bei zwei (hier nicht einbezogenen) Fällen überzeugen konnten. Ferner zeigte PERILLIE [14], daß bei akuter Leukämie reife Granulocyten in der Hautläsion erscheinen können, auch wenn im peripheren Blut ausschließlich unreife myeloische Zellen vorhanden sind. Er nahm an, daß in diesen Fällen noch funktionstüchtiges Knochenmark vorhanden sein müsse; der weitere Krankheitsverlauf gab ihm insofern recht, als alle Patienten mit guter granulocytärer Phase im Entzündungsgebiet durch therapeutische Maßnahmen in Remission gebracht werden konnten.

Dagegen besteht über die *Herkunft der mononucleären Zellen* noch wenig Klarheit. Die Frage, ob sie aus dem Blute stammen oder durch direkte Umwandlung in loco aus Gewebszellen entstehen, ist bis heute noch nicht vollständig geklärt.

In jüngster Zeit haben Tierversuche, bei denen das Schicksal radioaktiv markierter Zellen direkt verfolgt werden konnte, entscheidend neue Tatsachen beigelegt: VOLKMAN und GOWANS [23] bewiesen, daß bei Ratten die Makrophagen des entzündlichen Exsudats aus dem Blute stammen. Im Parabiose-Versuch konnte gezeigt werden, daß 12—24 Std nach einmaliger H_3 -Thymidin-Markierung des einen Tieres auch im zweiten Tier markierte Makrophagen in eine entzündliche Läsion (Rebuck-Hautfenster) einwandern. Weitere Versuche betrafen die Bildungsstätten dieser Zellen: lethalbestrahlten Ratten wurden H_3 -Thymidin-markierte Zellen aus verschiedenen Organen

(Lymphknoten, Ductus thoracicus-Lymphe, Milz und Knochenmark) injiziert. Nur nach Substitution mit Knochenmarkszellen erschienen reichlich markierte Makrophagen im Exsudat der Hautläsion (ebenfalls mit Hilfe der Rebeck-Technik untersucht). Die Autoren kommen zum Schluß, daß eine myelogene Stammzelle („Hämoctoblast“) als unmittelbare Vorstufe der Makrophagen angenommen werden müsse. Morphologisch sind dies kleine Zellen mit chromatinreichem Kern und relativ schmalem basophilen Cytoplasma, die VOLKMAN in seinen Rebeck-Präparaten ebenfalls vereinzelt neben den typischen Makrophagen fand. Es sind wahrscheinlich dieselben Zellen, die REBUCK für Lymphocyten hält und die auch wir morphologisch nicht sicher von solchen unterscheiden konnten.

Bei unseren Untersuchungen fanden wir in der ersten Altersgruppe, d.h. bei Kindern von 6—28 Tagen, unter den mononucleären Zellen zahlreiche mit den von VOLKMAN und GOWANS beschriebenen Charakteristica der Hämoctoblasten. Dagegen können wir schon von der 5. Lebenswoche an (Kinder der Altersgruppen 2 und 3) keine deutlichen morphologischen Unterschiede gegenüber den Zellen des Erwachsenen finden. Lediglich quantitativ ist der prozentuale Anteil dieser Zellen in der 2. Altersgruppe etwas höher als in der 3., allerdings ohne statistische Signifikanz.

Aus diesen Beobachtungen kann folgende Arbeitshypothese aufgebaut werden: bei den Mononucleären im entzündlichen Exsudat handelt es sich um eine gemischte Zellpopulation, deren individuelle Zellen auf verschiedenen Ausreifungsstufen zwischen der Stammzelle und den voll differenzierten Makrophagen stehen. Ferner könnte spekuliert werden, daß die Anzahl der Makrophagen in der 2. Altersgruppe zwar über dem Durchschnitt liege, aber daß sie weniger weit ausgereift seien.

Künftige Arbeiten werden die hier aufgeworfenen Fragen weiter zu klären haben. Es ist nach bisherigen Befunden wenig wahrscheinlich, daß die herkömmlichen morphologischen Untersuchungsmethoden dazu genügen werden. Vielmehr müssen zusätzliche Methoden eingesetzt werden: einerseits scheint ein Ausbau morphologischer Verfahren durch Anwendung cytochemischer und elektronenmikroskopischer Techniken, andererseits die Prüfung funktioneller Fähigkeiten der Zellen aussichtsreich. Es ist zu hoffen, daß auf diese Weise eine Möglichkeit zur Prüfung der immunologischen Reaktion vom verzögerten Typ geschaffen werden kann, da alle bisher zur Verfügung stehenden Möglichkeiten unbefriedigend sind.

Zusammenfassung. An 61 Kindern im Alter von 6 Tagen bis 12 Monaten wurde mit Hilfe der von REBUCK entwickelten Hautfenstermethode die mononucleäre Entzündungsphase studiert. Es wurde gezeigt, daß im ersten Lebensmonat die mononucleären Zellen später und allgemein in geringerer Zahl erscheinen. Bereits vom 2. Monat an besteht aber kein signifikanter Unterschied mehr gegenüber den bei erwachsenen Kontrollpersonen erhaltenen Resultaten. Außer diesen rein quantitativen Unterschieden kann aber auch eine morphologische Veränderung der mononucleären Zellen nachgewiesen werden, die mit Abbildungen belegt wird: bei kleineren Kindern finden sich mehr kleinere, chromatinreiche Zellen als in fort-

geschrittenem Lebensalter, die von einigen Autoren als „Stammzellen“ bezeichnet werden. — Über die funktionellen Potenzen der mononucleären Zellen kann mit den verwendeten rein morphologischen Methoden keine bindende Aussage gemacht werden.

Summary. Induced inflammation, using the „skin window“ technique of REBUCK, was studied on sixty-one children, from six days to one year old, with reference to the mononuclear phase of inflammation. Only in the first month of life was it shown that mononuclear cells appear later, and in lower concentration. However, no significant difference was noted in results from control examinations on adults compared to those found in children two months old or more. Furthermore, it was demonstrated that a morphological change in mononuclear cells, as well as quantitative differences, exists; this was proved by photomicrographs. With young children, more small chromatin-rich cells are found than in later life; some authors term these cells „stem cells“. Using this purely morphological method, it is not possible to come to any definite conclusions regarding the physiological activity of mononuclear cells.

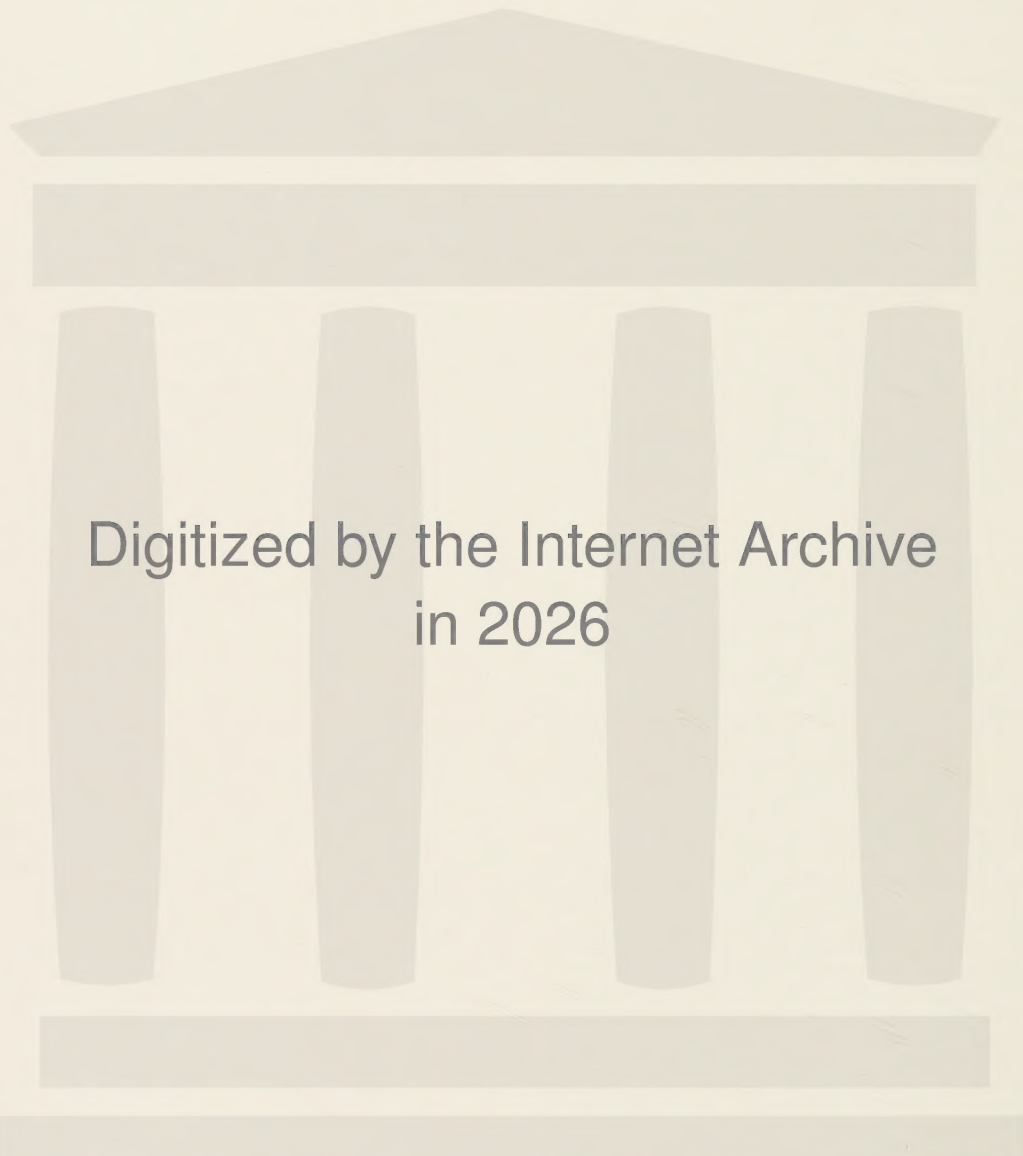
Herrn Prof. HITZIG danke ich für seine Anleitung bei der Durchführung dieser Arbeit, Herrn Dr. H. J. PLÜSS für manigfache technische Hilfe, besonders bei der Aufnahme der Photographien. Mein Dank gilt auch Herrn Dr. med. F. LARCHER für die Erlaubnis zu Untersuchungen im Monikaheim „In der Hub“ sowie den Schwestern des Kinderspitals Zürich und des Monikaheims für ihre Handreichungen.

Literatur. 1. BECKER, H., Y. KUDO, H. ARGENTON u. H. FISCHER: Cytologische Untersuchungen bei der lokalen Entzündung. *Folia haemat.* (Frankf.), N.F. 5, 91 (1961). — 2. BOGGS, D. R., J. W. ATHENS, O. P. HAAB, and S. O. RAAB: Induced inflammatory exudates in normal man. A method designed to study the qualitative and quantitative cellular response to a pyogenic stimulus. *Amer. J. Path.* 44, 61 (1964). — 3. BRIDGES, R. A.: The morphologic basis of antibody formation development during the neonatal period. *J. Lab. clin. Med.* 53, 331 (1959). — 4. COOPER, M. D., R. D. A. PETERSON, and R. A. GOOD: Ontogenetic development of the germinal centers and their function. Relationship to the bursa of Fabricius. *Exp. Hemat.* 11, 5 (1966). — 5. EITZMAN, D. V., and R. T. SMITH: The non-specific inflammatory cycle in the neonatal infant. *Amer. J. Dis. Child.* 97, 326 (1959). — 6. FISHER, R. A.: Statistical methods for research workers. Edinburgh: Oliver & Boyd 1944. — 7. GOOD, R. A.: Phylogenetic development of germinal centers, plasma cells and immunological capacity. *Exp. Hemat.* 11, 4 (1966). — 8. GÜNTHER, O.: Die Entwicklung der Immunität. *Dtsch. med. Wschr.* 89, 2449 (1964). — 9. HITZIG, W. H.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963. — 10. JORKE, D.: Lymphoidzellen und örtliche Entzündung. *Folia haemat.* (Frankf.), N.F. 8, 409 (1963). — 11. PAGE, A. R.: Studies in the lymphocyte response to inflammation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 116, 964 (1964). — 12. PAGE, A. R., and R. A. GOOD: A clinical and experimental study of the function of neutrophils in the inflammatory response. *Amer. J. Path.* 34, 645 (1958). — 13. PAZ, R. A., and W. G. SECTOR: The mononuclear cell response to injury. *J. Path. Bact.* 84, 85 (1962). — 14. PERILLIE, P. E.: Quantitative studies on the local exudative cellular reaction in acute leucemia. *J. clin. Invest.* 43, 425 (1964). — 15. PERILLIE, P. E.: The local exudate cellular response in leukemia. *J. clin. Invest.* 39, 1353 (1960). — 16. PLÜSS, H. J.: Persönliche Mitteilung. — 17. REBUCK, J. W.: Potentialities of lymphocytes with an additional reference to its dysfunction in M. Hodgkin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 73, 8 (1958). — 18. REBUCK, J. W.: Basophilic granulocytes in inflammatory tissues of man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 103, 409 (1963). — 19. REBUCK, J. W., C. B. BOYD, and J. M. RIDDLE: Skin windows and the action of the reticulo-endothelial system in man. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 88, 30 (1960). — 20. REBUCK, J. W., and J. H. CROWLEY: A method of studying leucocytic function in vivo. *Ann. N.Y.*

Acad. Sci. **59**, 757 (1955). — 21. SHELDON, W. H., and J. B. CALDWELL: The mononuclear cell phase of inflammation in the newborn. Bull. John Hopk. Hosp. **112**, 258 (1963). — 22. SPECTOR, W. G.: The inflammatory response. Bact. Rev. **27**, 117 (1963). — 23. VOLKMAN, A., and J. L. GOWANS: The production of macrophages in the rat. Brit. J. exp. Path. **46**, 50 (1965). — 24. VOLKMAN, A., and J. L. GOWANS: The origin of macrophages from bone marrow in the rat. Brit. J. exp.

Path. **46**, 62 (1965). — 25. WASSERMANN, H. P.: Lymphocytes and the transport of melanin. J. invest. Derm. **41**, 377 (1963).

Dr. MAGDALENA MEYER
Kinderspital Zürich
Eleonorenstiftung
CH-8032 Zürich (Schweiz)
Steinwiesstr. 75



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507221_0056

